

INACTIVACIÓN MICROBIANA EN PRODUCTOS CÁRNEOS ACOPLADA A LA SIMULACIÓN NUMÉRICA DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

M.V Santos^{1,2*}, N. Zaritzky^{1,2}, A. Califano²

¹ PROAL Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, UNLP, 47 y 115, La Plata (1900). Argentina. ² Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias. Exactas, UNLP – CONICET.

Palabras claves: *Escherichia coli* O157:H7, inactivación microbiana, elementos finitos, simulación numérica.

INTRODUCCION

La presencia del microorganismo *Escherichia coli* O157:H7 en productos cárnicos y derivados provoca alteraciones gastrointestinales que pueden ser severas, formando parte de las ETA (enfermedades transmitidas por los alimentos). La bacteria *E. coli* O157:H7 produce toxinas que son la causa principal de los síntomas gastrointestinales pudiendo derivar en Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). En la Argentina existen al menos 400 casos al año (Dirección de Epidemiología, 2005), constituyéndose en el país con mayor incidencia mundial. El SUH puede causar la muerte o dejar secuelas permanentes como insuficiencia renal crónica, hipertensión arterial y alteraciones neurológicas. El microorganismo se puede inactivar adecuadamente en productos como hamburguesas si se realiza la completa cocción del producto (temperatura del centro alcanzado los 70 °C o 68 °C durante 15 segundos (CFR, 2009; FDA, 2009). Los embutidos pre-cocidos (entre ellos las morcillas) constituyen un alimento de consumo habitual en varias partes del mundo además de la Argentina. Según el Código Alimentario Argentino (2005) este tipo de embutidos cocidos, sufren un proceso térmico de cocción para incrementar su vida útil. Sin embargo si el proceso de calentamiento no es eficiente esto implicaría un riesgo sanitario potencial para los consumidores. En general en la industria se utilizan recipientes con agua a una temperatura entre 80-90°C donde el producto es tratado térmicamente durante 30-40 minutos. El método utilizado para determinar la finalización de la cocción es empírico y se basa en la verificación visual de que la sangre ha coagulado (no se observa líquido) cuando se realiza una incisión en el producto. Por otro lado es importante tener en cuenta que en sistemas industriales donde la relación volumen de agua a volumen de embutido es baja, la temperatura del fluido disminuye considerablemente cuando se introducen las piezas cárneas. En algunas industrias de pequeña y mediana escala existen sistemas automáticos de control de temperatura que accionan sobre los equipos de calentamiento (quemadores de gas), sin embargo la inercia térmica del agua impide la instantánea recuperación de la temperatura inicial provocándose el descenso de la temperatura de acuerdo a la relación de carga (LR = kg producto/kg agua) utilizada. Este descenso es aún más acentuado cuando se carece de un sistema de control, lo cual es frecuente en industrias de pequeña escala. Como consecuencia se requiere modificar las especificaciones de tiempo-temperatura teniendo en cuenta este descenso de temperatura del agua para lograr un producto inocuo para los consumidores. Es por lo tanto necesaria una estrategia de control térmico para empresas de pequeña y mediana escala. Oteiza y col., 2006 detectaron la presencia de *E. coli* y *E. coli* O157:H7 en morcillas por lo tanto este producto es de elevado riesgo para el consumidor debido a la presencia de estos microorganismos patógenos lo cual demuestra que hubo una deficiencia en dos aspectos importantes: la higiene durante la manipulación del alimento y/o el proceso de calentamiento. Cabe resaltar que en la Argentina es costumbre habitual consumir estos embutidos con un tratamiento térmico posterior nulo o insuficiente para la destrucción de los patógenos. El Código Alimentario Argentino no establece las condiciones tiempo-temperatura de calentamiento que deben aplicarse a este producto para cumplir con las normas higiénico-sanitarias de inocuidad.

La simulación computacional aporta a la industria alimentaria importantes ventajas en cuanto a disminución de costos y tiempos para desarrollo de productos, además de ser una herramienta útil para optimizar el proceso para mejorar la calidad y seguridad

microbiológica. Existen en el mercado simuladores comerciales que predicen temperatura en función del tiempo, utilizando el método de los elementos finitos (MEF), sin embargo un programa computacional escrito e implementado por el usuario (código abierto) es más fácil de modificar y comprender cuando se busca acoplar subrutinas específicas, que son de interés para simular el problema físico. Este tipo de programas abiertos nos permiten encontrar el punto más frío del alimento (puntos críticos), acoplando en ese punto la cinética de inactivación del microorganismo patógeno, de tal manera que el programa finaliza cuando se alcanza un valor de esterilización dado. Otra ventaja es la posibilidad del acoplamiento de los balances macroscópicos de energía que nos permiten diseñar el algoritmo de control utilizando una temperatura externa variable y considerando el flujo de calor total que ingresa al alimento.

Los objetivos de este trabajo fueron:

- Desarrollar un programa computacional propio utilizando el MEF que permita predecir los requerimientos mínimos de tiempo y temperatura para asegurar la destrucción de microorganismos patógenos como la *Escherichia coli* O157:H7 mediante la simulación numérica del proceso de calentamiento acoplando la cinética de inactivación térmica de dicho microorganismo.
- Validar el modelo computacional comparando el perfil de temperaturas predichos con las historias térmicas obtenidas mediante experimentos de laboratorio.
- Simular el descenso de temperatura del agua en función de la carga del producto (LR=kg producto/kg agua) acoplando el balance microscópico diferencial de energía con el balance macroscópico de energía, validando el modelo con mediciones experimentales.
- Establecer requerimientos de tiempos mínimos de proceso para asegurar una reducción de 12_{\log} en la población microbiana patógena de *E. coli* O157:H7 considerando el descenso en la temperatura del agua en función de la LR y de la temperatura inicial del fluido calefactor que puedan ser aplicados en plantas industriales.

SIMULACION NUMERICA

Modelado matemático de la transferencia de energía en dominios irregulares

La geometría de las morcillas se puede considerar como un sólido de revolución cuya representación gráfica se muestra en la Figura 1a). Se partió de la ecuación diferencial que gobierna la transferencia de energía en coordenadas cilíndricas para un problema axial simétrico utilizando una condición de contorno tipo convectiva.

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} r = \frac{\partial}{\partial r} \left(k r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k r \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad (1)$$

La ecuación es válida en el dominio Ω siendo T la temperatura, t el tiempo del proceso de proceso, ρ la densidad, k la conductividad térmica, C_p el calor específico del material, r y z las coordenadas geométricas. Las condiciones iniciales y de contorno son las siguientes:

$$T = T_0 \quad t = 0 \quad \text{en } \Omega \quad (1)$$

$$\left(\frac{\partial T}{\partial z} \cdot nz + \frac{\partial T}{\partial r} \cdot nr \right) k = h(T_{\text{ext}} - T) \quad t \geq 0 \quad \text{en } \partial \Omega_1 \quad (2)$$

$$\left(\frac{\partial T}{\partial z} \cdot nz + \frac{\partial T}{\partial r} \cdot nr \right) k = 0 \quad t \geq 0 \quad \text{en } \partial \Omega_3 \quad (3)$$

donde $\partial \Omega_1$ corresponde a la interfase convectiva y $\partial \Omega_3$ al eje de simetría, respectivamente, nz y nr son las componentes del vector normal unitario exterior a la curva que forma el contorno del alimento, T_{ext} es la temperatura del medio calefactor, T_0 la temperatura inicial y h el coeficiente de transferencia de calor en la interfase.

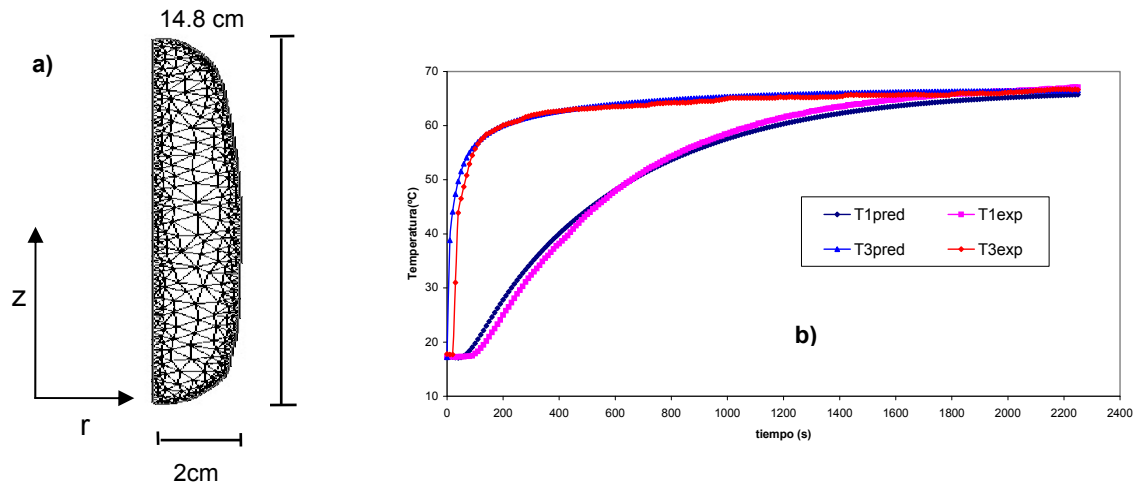


Fig. 1 a) Superficie de revolución discretizada cuyo contorno representa la geometría del producto.
b) comparación entre los resultados numéricos (T_{pred}) y las historias térmicas experimentales (T_{exp}) correspondientes al calentamiento de una pieza de embutido. (Temperatura del medio calefactor = 66.6°C). Posición de termocupla T1: radial:1.2cm, axial: 7.35cm. Posición de termocupla T3: radial:2.21 cm, axial: 6.97 cm

Para discretizar el dominio de geometría irregular, se utilizaron imágenes digitales del producto a simular obteniendo la curva que definía el contorno del producto, suponiendo que el alimento presentaba un eje de simetría en $r = 0$. Luego se generó en un mallador la grilla de coordenadas espaciales, cuya información se alimentó al programa principal. Se tomaron suficiente cantidad de nodos y elementos como para maximizar la precisión de la solución numérica y mantener el tiempo de cálculo dentro de un rango aceptable.

Para resolver numéricamente la ecuación de transferencia de energía se utilizó la formulación variacional y el método de los elementos finitos que requirieron la aplicación de técnicas matemáticas descriptas basadas en el método de Galerkin y el Teorema de la Divergencia (Bathe, 1996; Zienkiewicz y Taylor, 1994 a) que se detallan en Santos (2010). El programa computacional fue implementado en Matlab 6.5 y permite calcular los cambios de temperatura durante el calentamiento en cada punto del dominio como el flujo de calor total que ingresa al alimento.

Acoplamiento del Balance macroscópico de energía: En las plantas industriales los embutidos son procesados térmicamente en sistemas batch; son introducidos en recipientes con agua a una temperatura inferior a los 100°C para su cocción, evitando así la ruptura de los productos. El agua calentada previamente mediante quemadores a gas, presenta un notorio descenso de temperatura cuando se sumergen las piezas cárneas en el fluido calefactor; este descenso está ligado a la cantidad de producto que está siendo procesado, el volumen de agua del recipiente y del calor efectivo entregado por los equipos de calentamiento (quemadores). La recuperación de la temperatura del fluido a su valor inicial depende fundamentalmente de dos parámetros: a) la relación de carga ($LR = \text{kg producto/kg agua}$); b) el calor efectivo entregado por los quemadores. Cabe resaltar que en las plantas de procesamiento más equipadas, que presentan un control de temperatura que acciona sobre los quemadores, la recuperación de la temperatura del fluido no es instantánea, debido a la inercia térmica del agua. Para describir las condiciones reales de procesamiento es necesario resolver el balance macroscópico de energía acoplado con el balance microscópico diferencial de energía el producto individual. El programa computacional calcula a cada incremento del tiempo el flujo de calor total ingresado integrando numéricamente el flujo en toda el área expuesta con el fluido; esta cantidad de energía se multiplicó por el número de embutidos procesados en cada batch para calcular Q_{producto} . La energía en forma de calor se transfirió desde el quemador al fluido y desde el fluido a los embutidos. Se consideró la pérdida de calor debido a evaporación y a través de las paredes del recipiente (Q_{perdido}). Por ende el balance macroscópico acoplado al balance microscópico

es el siguiente: $Q_{\text{quemador}} = Q_w + Q_{\text{producto}} + Q_{\text{perdido}}$

A partir de la ecuación anterior y sabiendo la masa de agua y su calor específico se puede calcular el descenso de temperatura en un incremento de tiempo Δt . Este descenso de temperatura, ahora conocido, se alimentó al código computacional recalculando el balance microscópico y el nuevo perfil de temperaturas en el embutido.

Cinética de inactivación microbiana: Teniendo en cuenta que la disminución de una población microbiana generalmente sigue una forma exponencial, el cambio producido en la población sigue en general una cinética de primer orden. El tiempo de muerte térmica, F , es el tiempo necesario para causar una determinada reducción en la población de microorganismos a una temperatura de referencia. Se lo define en general como un múltiplo del valor de D_{ref} . Entonces resulta que el cociente del F del proceso (F_{proceso}) real y el D_{ref} es:

$$\frac{F_{\text{proceso}}}{D_{\text{ref}}} = \log\left(\frac{N_0}{N}\right) = \int_0^t \frac{10^{\frac{(T-T_{\text{ref}})}{Z}}}{D_{\text{ref}}} \cdot dt \quad (5)$$

El D_{ref} es el tiempo de reducción decimal (min) que representa el tiempo requerido para reducir un 90% la población microbiana a una temperatura determinada, Z (°C) es la constante de resistencia térmica definida como el incremento de temperatura necesario para disminuir D_{ref} en un 90%.

A partir de los parámetros cinéticos del microorganismo patógeno *Escherichia coli* O157:H7, la carga inicial N_0 , y la historia térmica en el punto más frío del alimento (T) se puede integrar numéricamente la ecuación anterior y obtener los valores de $\log(N_0/N)$ a cada tiempo adoptando intervalos pequeños de tiempo. Con referencia a los parámetros de letalidad para la inactivación térmica de la *E. coli* O157:H7 en morcillas se utilizaron los datos reportados por Oteiza y col. (2003): D_{ref} (2.74 min), T_{ref} (57 °C), y Z (7.44 °C). Se fijó un valor de inactivación ($VI = \log(N_0/N)$) de 12_{\log} para determinar los tiempos de procesamiento, dado que estos productos se consumen frecuentemente sin un posterior calentamiento. Es importante tener en cuenta que la presencia de 10 organismos de *E. coli* O157:H7 son suficientes para causar enfermedad en humanos (FDA, 2008). Suponiendo un valor inicial de N_0 de 10^4 UFC/g y un peso promedio de morcilla de 100 g, la población total inicial de patógenos en una morcilla sería de 10^6 UFC/embutido. Luego del tratamiento térmico en el que se alcanza un $VI = 12_{\log}$, encontraríamos 1 UFC cada un millón de embutidos tratados, que puede suponerse una probabilidad suficientemente baja como para asumir una esterilización eficiente. En síntesis el programa computacional predice los tiempos mínimos de procesamiento para que el sistema alcance un $VI=12_{\log}$ considerando el descenso en la temperatura del fluido calefactor y acoplado la cinética de inactivación microbiana y el balance macroscópico de energía.

PARTE EXPERIMENTAL

Validación del proceso de calentamiento del producto cárnico utilizando una temperatura de fluido constante: El modelo numérico se validó en una primera etapa considerando una temperatura del fluido calefactor constante para lo cual se estimó previamente el coeficiente de transferencia calórica en la interfase ($h = 1615 \text{ W/m}^2 \text{ °C}$). Se realizaron experiencias de calentamiento sumergiendo unidades de embutido (aproximadamente de 2 cm de radio y 14 cm de largo) en un baño termostático con agitación interna (Haake F3, Alemania). Se registraba la temperatura en distintos puntos del producto y del fluido calefactor, mediante termocuplas tipo T (Cobre-Constantán); las termocuplas se conectaron a adquirentes (Testo 175, Testo AG, Alemania). El peso promedio de las unidades fue 150 g y la composición química sin la piel, fue: 15.58 % proteínas, 11.68 % grasa, 1.97 % carbohidratos, 68.58 % agua, y 2.19 % cenizas. Se realizaron diez experimentos utilizando distintas temperaturas de agua (T_{ext}); en estos experimentos la T_{ext} estuvo comprendida en un rango de 60 a 90 °C (66.6, 76.3, 78, 78.2, 79, 82, 85.5, 86, 88, y 90). Las propiedades termo-físicas del producto que se alimentaron al

programa principal son: $\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$, $k = 0.53 \text{ W/m } ^\circ\text{C}$, y $C_p = 3230 \text{ J/kg } ^\circ\text{C}$ (Adam y col., 1997).

Validación del balance macroscópico de energía acoplado al balance microscópico para evaluar el descenso de temperatura del fluido calefactor: Se realizaron experimentos de calentamiento sumergiendo diferente número de embutidos en el recipiente para determinar el descenso de temperatura en el fluido como función de la carga (kg de producto). Se utilizaron cuatro termocuplas ubicadas en distintos puntos en el fluido calefaccionante con el objeto de registrar el descenso de temperatura en función del tiempo.

Determinación del calor efectivo del quemador: A los efectos de reproducir las condiciones industriales de procesamiento térmico de los embutidos, se utilizó un recipiente con agua, de 10 L similar al de una planta elaboradora de pequeña escala, calefaccionado mediante un quemador a gas. Se realizaron experimentos para determinar el calor efectivo entregado por dicho quemador. El agua dentro del recipiente se calentó utilizando un quemador industrial de escala piloto hasta alcanzar una temperatura máxima de 90°C . El aumento de temperatura en función del tiempo se almacenó en adquisidores utilizando cuatro termocuplas localizadas en distintas posiciones dentro del recipiente. Utilizando esta información se calculó el calor efectivo (Q_{ef}) del quemador al fluido calefaccionante ($Q_{\text{ef}} = Q_{\text{quemador}} - Q_{\text{perdido}}$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 b) se puede observar la excelente concordancia entre los resultados predichos por el programa de simulación numérica y las temperaturas experimentales obtenidas durante el calentamiento de los productos cárneos. La experiencia mostrada a modo de ejemplo correspondió a una temperatura del medio calefactor de 66.6°C . El error porcentual promedio entre las temperaturas experimentales y predichas fue de 3.2 %.

El tiempo máximo de cálculo computacional, utilizando la malla descrita fue de 8 minutos. Se calculó el error relativo porcentual ($e_r(\%) = ((T_{\text{exp}} - T_{\text{pred}})/T_{\text{exp}}) \cdot 100\%$), donde T_{exp} es la temperatura experimental, y T_{pred} es la temperatura predicha, ambas a un tiempo t . Teniendo en cuenta todos los experimentos realizados el $e_r\%$ máximo fue de 1.5%, por lo tanto se puede concluir que el código desarrollado reproduce con buena precisión los datos experimentales.

En la Figura 2a se muestran las temperaturas experimentales y simuladas durante el calentamiento para sistemas industriales donde se produce un descenso en la temperatura del fluido calefactor debido a la introducción de la carga fría. El coeficiente de transferencia de calor del sistema, previamente determinado experimentalmente, fue de $1105 \text{ W/m}^2\text{ }^\circ\text{C}$.

Las simulaciones numéricas permitieron predecir con exactitud el descenso de temperatura del agua para distintas relaciones de carga y temperaturas iniciales de fluido calefactor. El error porcentual promedio entre las temperaturas predichas y experimentales fue de 2.2%.

Aplicaciones del modelo numérico desarrollado para predecir tiempos de procesamiento variando condiciones operativas

Una vez que se validó experimentalmente el modelo matemático tanto para la condición de temperatura del fluido calefactor constante como variable, se realizaron simulaciones numéricas en el programa computacional variando la temperatura inicial del fluido calefactor ($T_{\text{ext},0} = 75\text{--}95^\circ\text{C}$), el coeficiente de transferencia en la interfase ($h = 800\text{--}1150 \text{ W/m}^2\text{ }^\circ\text{C}$), y la relación de carga ($LR = 0.15\text{--}0.75 \text{ kg producto/ kg agua}$). El programa numérico para las distintas condiciones operativas analizadas (h , $T_{\text{ext},0}$, LR) finalizaba al alcanzar un valor de inactivación de 12_{\log} permitiendo calcular el tiempo mínimo de proceso (Fig. 2b)

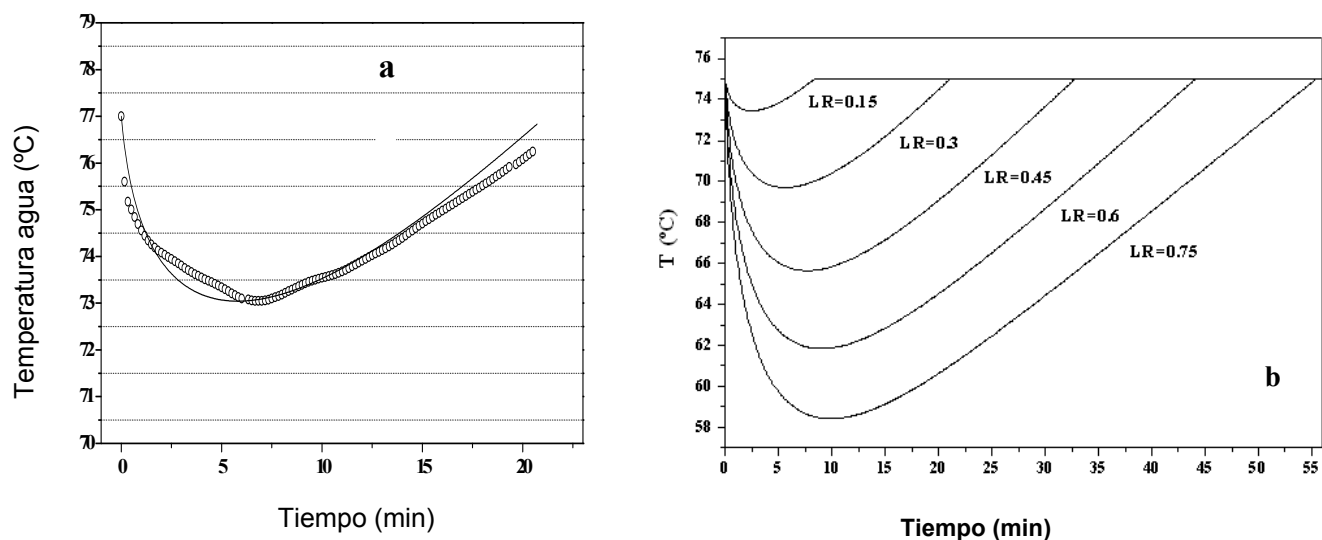


Fig. **2a** Comparación entre las temperaturas predichas y experimentales del fluido calefactor que muestran el descenso de temperatura producido cuando se introduce la carga de producto. Temperatura de agua predicha O: temperatura experimental, $h = 1105 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$, temperatura inicial ($T_{\text{ext},0} = 77 \text{ } ^\circ\text{C}$), masa de embutidos 3.5 kg, y temperatura inicial de embutidos ($T_i = 13 \text{ } ^\circ\text{C}$). El volumen de agua para ambos casos fue 10 L. **2.b** Predicción numérica del descenso de temperatura del agua en función de la relación de carga ($\text{LR} = \text{kg embutidos/kg agua}$) considerando $h = 850 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $T_{\text{ext},0} = 75 \text{ } ^\circ\text{C}$, temperatura inicial de producto; $T_i = 13 \text{ } ^\circ\text{C}$.

El descenso de la temperatura del agua al sumergirse una cierta cantidad de masa de embutidos lleva a que los tiempos del proceso para alcanzar un $\text{VI} = 12_{\log}$ sean más altos que los predichos para una condición de temperatura de fluido constante. En la Tabla 1 se pueden observar los tiempos de procesamiento térmico necesarios para alcanzar un valor de inactivación ($\text{VI} = 12_{\log}$) en función de la relación de carga LR. Cuando LR tiende a cero, la cantidad de agua es mucho mayor que la cantidad de producto y se podría asumir que la temperatura del fluido se mantiene constante a lo largo del todo el proceso. El tiempo mínimo requerido en este caso ideal para una temperatura de fluido de $75 \text{ } ^\circ\text{C}$, es de 20 min. Como se observa en la Tabla 1 los tiempos mínimos de procesamiento que tienen en cuenta el descenso de la temperatura del fluido calefactor, son mucho mayores que 20 minutos por lo que adoptar el tiempo de proceso teórico un tiempo de 20 min se traduciría en VI menores a 12_{\log} .

Tabla 1. Tiempos mínimos de proceso para alcanzar un $\text{VI} = 12_{\log}$ para distintos valores de LR considerando una temperatura inicial del fluido de $75 \text{ } ^\circ\text{C}$, $h = 850 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$ y una temperatura inicial de producto de $13 \text{ } ^\circ\text{C}$.

LR	Tiempo (min)
0.75	36.8
0.60	32.2
0.45	28.5
0.30	25.9
0.15	24.3
0.00	20.0

Resulta interesante remarcar que en el caso de utilizar los tiempos teóricos de proceso, donde no se considera un descenso de temperatura del fluido calefactor, el valor de inactivación alcanzado sería menor a 12_{\log} . Por ejemplo asumiendo una temperatura de

fluido constante, con una $LR=0.45$ y $h=1000\text{W/m}^2\text{ }^{\circ}\text{C}$, los VI alcanzados serían de 2.7, 1.8, y 1.5 ciclos logarítmicos para una temperatura de fluido de 90, 80, y 70 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente, valores que están alejados de los 12_{\log} impuestos para este proceso. Esto demuestra la importancia de poder modelar adecuadamente el tratamiento térmico, ya que un insuficiente tiempo de proceso sería altamente riesgoso para el consumo de estos productos.

Se aplicó un método de regresión “stepwise” (SYSTAT, USA) a los tiempos mínimos de proceso obtenidos mediante simulaciones numéricas, para encontrar una ecuación sencilla, que permita predecir los tiempos teniendo en cuenta la temperatura inicial del agua y la relación de carga (LR). La ecuación que representa la superficie de respuesta del sistema y

el coeficiente de correlación ($R = 0.968$) es : $tp(\text{min}) = 63.276 - 0.526 \cdot T_{\text{ext},0} + 23.206 \cdot LR^2$

donde $T_{\text{ext},0}$ es la temperatura inicial del agua ($^{\circ}\text{C}$) y LR es la relación de carga (kg producto/kg agua). La superficie de respuesta se muestra en la Fig.3

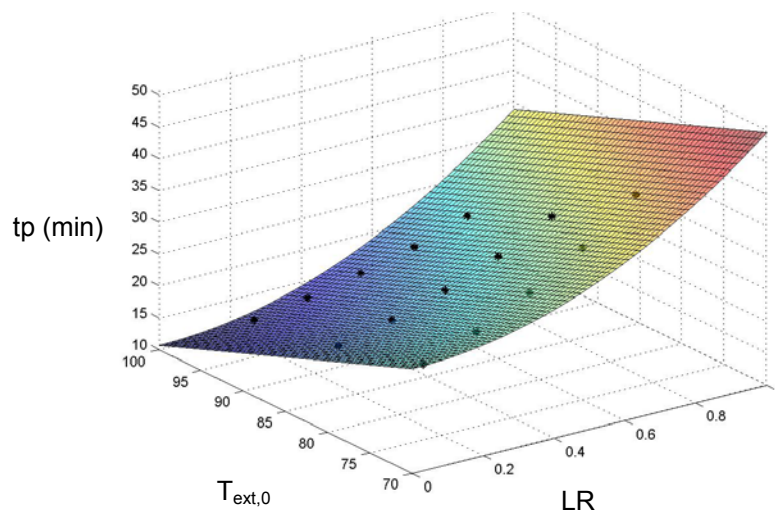


Fig. 3 Superficie de respuesta de los tiempos mínimos de proceso para alcanzar un VI de 12_{\log} en función de la temperatura inicial del agua ($T_{\text{ext},0}$) y la relación de carga ($LR=\text{kg producto/kg agua}$) para una temperatura inicial de producto; $T_i = 13\text{ }^{\circ}\text{C}$, población microbiana inicial; $N_0=10^4$ UFC/embutido, y un coeficiente de transferencia de calor ; $h = 850\text{ W/m}^2\text{ }^{\circ}\text{C}$

CONCLUSIONES

Se implementó un programa computacional propio para establecer los requerimientos tiempo-temperatura en el calentamiento de embutidos, con el objetivo de lograr la inactivación térmica del microorganismo *E. coli* O157:H7 ($VI=12_{\log}$) teniendo en cuenta condiciones de procesamiento industrial para la cual existe un descenso de la temperatura del fluido cuando se sumergen los productos. El modelo matemático resuelto mediante el método de elementos finitos se basó en resolver el balance microscópico diferencial de energía acoplado la cinética de destrucción microbiana y el balance macroscópico de energía. Se estudió el efecto de distintas relaciones de carga en el descenso de temperatura del agua y mediante el algoritmo de cálculo se pudo recalcular tiempos mínimos de proceso para alcanzar una reducción de 12_{\log} en la población microbiana controlando eficientemente el proceso de esterilización.

El modelo numérico desarrollado constituye una herramienta útil para las plantas elaboradoras de este tipo de embutidos cuando se requiere determinar condiciones de tiempo-temperatura que aseguren la inocuidad del alimento.

REFERENCIAS

Adam, M., Celba, J., Havlicek, Z., Jeschke, J., Kubesova, A., Neumannova, J., Nesvadba, P., Pokorny, D., Sestak, J., & Sramek, P. (1997). *Meat, meat products and semiprocesses thermophysical and rheological properties of foods*. Prague: Food Research Institute and Institute of Agricultural and Food Information.

- Bathe, K.J (1996). *Finite element procedures*. New Jersey: Prentice Hall.
- Belongia, E. A., MacDonald, K. L., Parham, G. L., White, K. E., Korlath, M. N., Lobato, S. M., Strand, S. M., Kasale, K. A., & Osterholm, M. T. (1991). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 colitis associated with consumption of precooked meat patties. *Journal Infection Disease*, 164, 338-343.
- Blanco, J., Blanco, M., Escribano, A., Blanco, J. E., Alonso, M. P., Marín, J., & Hernández, R. (1995). *Escherichia coli* verotoxigénicos y el síndrome urémico hemolítico. Aspectos clínicos y microbiológicos. *Anales Españoles de Pediatría*, 42, 9-19.
- Carlsaw, H. S., & Jaeger, J.C. (1959). *Conduction of heat in solids*. Oxford: University Press.
- Cleland, D.J., Cleland, A.C, Earle, R.L., & Byrne, S.J (1984). Prediction of rates of freezing, thawing or cooling in solids of arbitrary shape using the finite element method. *International Journal of Refrigeration*, 7, 6-13.
- CFR (2005) Code of Federal Regulations, National Archives and Records Administration. 9 CFR Ch. III, 318.23, page 278 .
- Doyle, M. P. (1991). *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 12, 289-302.
- FDA (1993). *Food code*. Washington, DC: US Public Health Service, Food and Drug Administration.
- Martins, R.C. (2004). Modelling temperature abuses to frozen foods and effects on quality. PhD thesis. Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto, Portugal.
- Martins, R.C. (2006). Simple finite volumes and finite elements procedures for food quality and safety simulations. *Journal of Food Engineering* 73, 327 - 338.
- Miliwebsky, E. S., Balbi, L., Gómez, D., Wainsztein, R., Cueto Rua, M., Roldan, C., Calleti, M., Leardini, A., Baschkier, A., Chillemi, G. M., & Rivas, M. (1999). Síndrome urémico hemolítico en niños de Argentina: asociación por infección con *Escherichia coli* productor de toxina shiga. *Bioquímica y Patología Clínica*, 63, 113-120.
- Oteiza, J. M., Chinen, I., Miliwebsky, E., & Rivas, M., (2006). Isolation and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from precooked sausages (morcillas). *Food Microbiology* 23, 283–288.
- Oteiza, J. M., Gianuzzi, L., Califano, A. (2003). Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* isolated from morcilla as affected by composition of the product. *Food Research International*, 36, 703.
- Pearson A.M., & Gillet T.A. (1996). *Processed meats*. New York: Chapman & Hall.
- Pham, Q.T, (2006). Mathematical modeling of freezing processes. In Da-Wen Sun, *Handbook of frozen food processing and packaging* (pp.141-173). New York: Taylor & Francis Group.
- Riley, L. W. (1987). The epidemiologic, clinical, and microbiologic features of haemorrhagic colitis. *Annual Review of Microbiology*, 41, 383-407.
- Zienkiewics, O.C, & Taylor, R.L. (1994 a), *El método de los elementos finitos* (Vol. 1). Barcelona: McGraw-Hill.
- Zienkiewics, O.C, & Taylor, R.L. (1994 b), *El método de los elementos finitos* (Vol. 2). Barcelona: McGraw-Hill.

Referencias de la web:

- Department of Health and Human Services. CDC (Centers for Disease Control and Prevention, Division of Bacterial and Mycotic Disease. Accessed April 10/2007, www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/escherichiacoli_g.htm
- Código Alimentario Argentino. De la Canal y Asociados SRL. (2005), Alimentos Cárneos y Afines, Capítulo 6 Art.343. Accessed Dec/18/2006, www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm
- Dirección de Epidemiología (2005). Diarrea aguda en Argentina. Precauciones especiales durante el período de verano. Epi-Noticias, número 527, año IV, 4, february 2005, Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación, Argentina. Accessed Dec/19/2006, www.direpi.vigia.org.ar/boletines/epinoticias/Destacado_04-02-05.pdf